Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof.Dr.Ewald Wüstenfeld
Arbeitsgruppe Prof. Dr. Hans - Joachim Merker

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM PROBLEM DER ENTWICKLUNG DER PAPILLA CIRCUMVALLATA BEI RATTEN

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Ralph Karau

aus Hameln

1975

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof.Dr.Ewald Wüstenfeld
Arbeitsgruppe Prof. Dr. Hans - Joachim Merker

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM PROBLEM DER ENTWICKLUNG DER PAPILLA CIRCUMVALLATA BEI RATTEN

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Ralph Karau

aus Hameln

Referent: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker
Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Hans Lenz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

UNIV. LEIDEN BIBL.

Promoviert am: 18.11.1975

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	7
III.	Befunde	
	a. lichtmikroskopisch	9
	b. elektronenmikroskopisch	13
IV.	Diskussion	21
V.	Zusammenfassung	28
VI.	Literatur	31
VII.	Bildmaterial	37

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0056

I. Einleitung

Die Ratte besitzt zahlreiche Geschmacksknospen, die sich auf drei große Bereiche im Mund verteilen:

1. Die papillae fungiformi, die sich am seitlichen Zungenrand im hinteren Drittel der Zunge befinden.
2. Die papilla circumvallata, von der die Ratte nur ein sehr ausgeprägtes Exemplar besitzt (Wyss, 1870). Sie ist in der Zungenmitte im dorsalen Bereich, kurz vor dem Übergang in die Epiglottis, lokalisiert.
3. 30-40 Geschmacksknospen in einem Geschmacksstreifen zusammengefaßt, der am Übergang vom harten zum weichen Gaumen liegt (Kaplick, 1953).

Eine genaue und systematische Arbeit über die Entstehung der papilla circumvallata und ihrer Geschmacksknospen bei der Ratte, besonders embryonal, liegt nach unseren Literaturstudien nicht vor. Lediglich in den Normentafeln der Wanderratte von Keibel (1937) wird kurz die anatomische Lage der papilla circumvallata und ihre grobe räumliche Entstehung beschrieben. Sie entwickelt sich am sulcus posttuberculare zwischen Kopula und Epiglottis. Langsam sich verdickendes Epithelgewebe begradigt zunächst den sulcus. Am Tag 15 (embryonal) beschreibt Keibel dann eine weitere Epithelverdickung mit gleichzeitig eingesenkten Rändern als Anlage der papilla. Bei der erwachsenen Ratte sind dagegen schon zahlreiche Untersuchungen der papilla circumvallata durchgeführt worden.

Nachdem von Key (1861) zum ersten Male der Begriff "Geschmackszellen" bei Untersuchungen an den breiten Papillen der Froschzunge aufgetaucht war, folgten Lovén und

Schwalbe (1868) mit ihren grundlegenden Untersuchungen über die Geschmacksorgane an zahlreichen Zungen, unter anderem auch an der Ratte. Es folgten lichtmikroskopische Arbeiten von Heidenhain und Kolmer (1910, 1914, 1927), später elektronenmikroskopische Arbeiten von Gasparini (1952), Engström und Rytzner (1956), Murray (1960), Nementschek et al. (1964), Farbman (1965), Uga (1969), Rehmer et al. (1969), Svejda und Janota (1974), Zalewski (1974) an verschiedenen Tierarten.

Die papilla circumvallata besteht aus einem kegelförmigen, bindegewebigen Körper. Geschichtetes Pflasterepithel füllt die Vertiefungen des darunter liegenden Bindegewebes so aus, daß die Oberfläche der Papille glatt erscheint. Zum Wallgraben hin, der um die Papille herumläuft, nimmt die Stärke des Epithels ab. Die Geschmacksknospen liegen sowohl in der dem Wall zugekehrten Epithelschicht als auch in der zur Papille hingewandten Epithelschicht des Wallgrabens. Dies ist eine Besonderheit der papilla circumvallata der Ratte (Lovén 1868, Engelmann 1871).

Geschmacksknospen sind helle, ovale Epithelverbände, die von einem dunkel erscheinenden Epithel umschlossen sind. Spindelförmige Zellen, welche die Enden der die innere Geschmackspore umgebenden Zellen darstellen, bilden zur Mundhöhle eine Öffnung, den sogenannten Porus. Sie sind mit einer geringen Zahl von schlanken Geschmackszellen verbunden. Nervenstränge ziehen von einem subepithelialen Plexus um die Geschmacksknospe herum und direkt zwischen den Epithelzellen in sie hinein (Bargmann, 1967).

Dieser allgemeine Aufbau der papilla circumvallata mit ihren Geschmacksknospen ist heute anerkannt. Uneinigkeit herrscht weiter über die morphologische Feinstruktur. Wie Lovén (1868) und Schwalbe (1868) schon erkannten, sind in der Papille zwei verschiedene Zelltypen zu finden, helle und dunkle Zellen. Diese Aussage wird von einigen elektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigt (Bargmann 1967, Uga 1969). Andere Autoren beschreiben drei verschiedene Zellarten, wobei zu den oben genannten noch eine gemischte Zellart dazukommt: homogenes Zytoplasma, geschwollene helle Mitochondrien, kleine sehr dichte Zellkerne (Nementschek et al. 1964). Murray und Murray (1973) erkennen schließlich vier verschiedene Zellen: Zellen mit dunklem Cytoplasma (dark cells), Zellen mit hellem Cytoplasma (light cells), Zellen mit dunklen, kernlosen Vesikeln, basale Zellen mit dunklem Zellkern und cytoplasmatischen Fibrillen wie bei den die Geschmacksknospe umgebenden Zellen. Ungeklärt ist auch, ob es einen interstitiellen Raum in Geschmackspapillen gibt, der von einer osmiophilen Substanz angefüllt ist (Nementschek et al. 1964). Baradi (1965) glaubt, daß dieser Raum für die Geschmacksempfindung wichtig ist. Murray (1971) spricht dagegen von Artefakten infolge der Zellschrumpfung.

Die Bedeutung der Nervenfasern für die Entwicklung von Epithelzellen zu Geschmacksknospenzellen ist ebenfalls seit langem bekannt. Farbman (1965) hat erste Untersuchungen von Gråberg (1898) und Marchand (1902) bestätigt. Er wies nach, daß der vorwachsende Nerv die Umwandlung der Zellen des stratum basale in die typischen Zellen der Geschmacksknospen induziert. Dagegen sprechen Unter-

suchungen von Kadanoff und Bozilov (1961) und von Kadanoff (1965), in welchen festgestellt wurde, daß in die Geschmacksknospen erst dann Nervenfasern hineinwachsen, nachdem die Knospen voll ausgebildet sind. In jüngster Zeit scheint diese Kontroverse durch die Anwendung moderner morphologischer Methoden zugunsten der induzierenden Wirkung der einwachsenden Nerven entschieden zu sein (Zalewski, 1974). Nach diesen Untersuchungen lassen sich die Geschmacksknospen mit bestimmten Phosphatasen, z.B. ATPäsen besonders gut anfärben (Zalewski, 1969a, b, 1970, 1972; Guth, 1958; Oakley, 1970). Nach Durchschneidung der entsprechenden Nerven lösen sich die Geschmacksknospen auf und die histochemische Phophataseaktivität verschwindet. Nach Nervennaht, Nervenimplantation etc. treten die Aktivitäten wieder auf und die Geschmacksknospen werden wieder sichtbar.

Schließlich sei noch auf das ebenfalls unklare Gebiet der Geschmacksknospenteilung hingewiesen. Eine Längsteilung wurde erstmals von Heidenhain (1914) gesehen. Danach gibt es keine weiteren Beschreibungen über eine solche Teilung. Gasparini entdeckte (1952) dagegen eine Querteilung. Untersuchungen von Rehmer et al. (1969) lehnen Gasparinis Ergebnisse als völlig unmöglich ab.

Die zeitliche und strukturelle Entwicklung der papilla circumvallata und ihrer Geschmacksknospen soll in dieser Arbeit ausführlich diskutiert werden. Speziell der embryonale Teil der Entwicklung ist bei diesem Tier und an dieser Stelle nach unseren Literaturstudien bislang völlig vernachlässigt worden, obwohl gerade diese Wachstumsphase mit ihrer zellulären Entwicklung von entschei-

dender Bedeutung für die morphologische Endstruktur ist. Allerdings sollte die Beurteilung der dabei erhobenen Befunde erleichtert werden durch die Resultate von Untersuchungen, die an Geschmacksknospen der papillae fungiformes während der Entwicklung bei Ratten und an regenerierenden Geschmacksknospen bei Kaninchen erarbeitet wurden (Farbman, 1965; Fujimoto and Murray, 1970; Zalewski, 1974).

Abgesehen von dem speziellen Interesse an der Geschmacksknospenentwicklung, die noch wesentliche Lücken in unserer Kenntnis aufweist und deren Problematik teilweise noch umstritten ist (siehe oben), stellt die Bildung dieser Strukturen - papilla circumvallata und Geschmacksknospen - Modellfälle morphogenetischer Ereignisse dar, bei denen mehrere Gewebsarten oder Zelltypen - hier Bindegewebe bzw. Mesenchym, Epithel und Nerven - beteiligt sind. Nur wenn diese drei Bestandteile synchron und im rechten Umfang während der Entwicklung zusammenwirken, entsteht eine normale Papille bzw. Geschmacksknospe. Es liegt also hier ein idealer Modellfall für eine sogenannte epithelio-mesenchymale Interaktion vor (Lit. siehe Grobstein, 1967; Holtfreter, 1968; eingehende Lit. siehe Pannier, 1975).

Darüberhinaus sind die strukturellen Parameter dieser Vorgänge - z.B. Nerveninvasion, Wallgrabenbildung, Drüsenbildung - so deutlich zu erfassen, daß sie bereits lichtmikroskopisch als Anhaltspunkte für die Beurteilung einer normalen oder gestörten Entwicklung gewertet werden können. Diese sichere Beurteilbarkeit macht aber den Spezialfall der Papillen- oder Knospenreifung

zu einem allgemein auswertbaren Kriterium für mehr allgemeinere Entwicklungsvorgänge. Mit anderen Worten: Diese Entwicklung kann uns Hinweise geben, ob das Nervensystem, die Epithelreifung und die epithelio-mesenchymale Interaktion gestört sind oder aber normal verlaufen. Solche Hinweise sind zur Beurteilung von embryotoxischen oder teratogenen Effekten nach Gaben von Arzneimitteln oder anderen Substanzen außerordentlich nützlich. Sie geben zusätzlich auch Auskunft, ob die Entwicklung nur retardiert oder aber völlig gestört ist.

Die Untersuchung ist deshalb als Grundlage solcher Kriterien durchgeführt worden, d.h. die wesentliche Bedeutung liegt in der genauen Description der einzelnen Stadien der Entwicklung. Daneben sind, wie weiter oben ausgeführt, noch einzelne Probleme bei der Papillenentstehung und Geschmacksknospenbildung umstritten. Deshalb soll in dieser Arbeit auf die Probleme des Einwachsens von Nerven, der Induktion durch Nerven auf Knospen oder umgekehrt und auf das Drüsenwachstum eingegangen werden.

II. Material und Methoden

Zur Herstellung der Präparate wurden sowohl für die lichtmikroskopischen als auch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen Rattenembryonen, junge und erwachsene Ratten eines Wistar-Inzucht-Stammes (Fw 69) benutzt.

Für die Lichtmikroskopie wurden die Rattenembryonen in einer Alkohol-Bouin-Lösung (Pikrinsäure-Formaldehyd-Eisessiggemisch) fixiert. Anschließend erfolgte über eine Alkoholreihe die Entwässerung und über Methyl-Benzoat die Einbettung in Paraplast. Es wurden Serienschnitte von 5 µ Dicke angefertigt. Folgende Färbungen kamen zur Anwendung: Hämalaun-Eosin, Azan und PAS. Von den jungen und erwachsenen Ratten wurden zunächst die Zungen isoliert herauspräpariert, anschließend auf folgende Weise fixiert: für eine anschließende HE-Färbung in einer Alkohol-Bouin-Lösung; für die Nervenanfärbung nach Bodean (Methode nach der Modifikation von Romeis) in neutral gepuffertem Formol. Die Einbettung vollzog sich wie oben schon beschrieben. Auch von diesen Präparaten wurden Serienschnitte in einer Dicke von 5 µ hergestellt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgte nach dem Herauspräparieren der geeigneten Stellen eine Fixierung in modifizierter Karnovsky-Lösung (3 % Paraformaldehyd + Glutaraldehyd in 0,2 M Cacodylatpuffer). Daran schloß sich eine Nachfixierung in 1 %iger, gepufferter (Cacodylatpuffer) Osmium-Säure (O_sO_4) an. Über eine Dehydrierung in Aceton gelangten dann die Prä-

parate zur Einbettung in Mikropal. Nach dem Aussägen der Schnitte mit einer Laubsäge wurden sie mit der Hand (Rasierklinge) oder mit einem Rotor zugeschnitten und mit einem LKB-Ultrotome III dünnstgeschnitten. Es folgte dann eine Nachkontrastierung in Uranylacetat und Bleicitrat.

Die Aufnahmen wurden mit Zeiss EM 10 und dem Siemens Elmiskop 101 gemacht. Zum Aufsuchen der geeigneten Stellen und zur besseren Orientierung im Schnitt stellten wir vor den Dünnstschnitten sogenannte Semidickschnitte (0,5 - 1,0 µ) her. Nach einer Färbung mit alkoholischer Giemsa-Lösung mit Boraxzusatz gelingt eine gute Darstellung der Strukturen, obwohl eine Differenzierung wie in den üblichen lichtmikroskopischen Präparaten nicht mehr möglich ist. Bei Herstellung der Positiva erfolgte eine weitere Vergrößerung um das 3 1/2-fache. Die fertigen Bildabzüge dienten dann der Auswertung.

III. Befunde

a. Lichtmikroskopische Befunde

Die Tragedauer der Ratte ist kurz. Sie beträgt 21 Tage. Am Tag 15 ist die Bildung des definitiven Gaumens abgeschlossen und die morphologischen Verhältnisse können ab jetzt vergleichend beurteilt werden. Zu diesem Zeitpunkt sind im Bereich der Zunge noch keine Oberflächendifferenzierungen im Sinne einer Strukturentstehung, die der späteren papilla circumvallata zuzuordnen wäre, nachzuweisen. Allerdings finden sich jetzt bereits im Bereich des weichen Gaumens und des Zungengrundes gestreckte oder angedeutet tubulär gewundene Drüsen. Bei höherer Vergrößerung sind die kubischen Epithelzellen noch unauffällig und zeigen keine sicheren Anzeichen einer Sekretionsaktivität.

Tag 18: Erst zu diesem Zeitpunkt kann man den Beginn einer Papillenentwicklung vermuten. Es treten an den Stellen, wo später die papilla circumvallata lokalisiert sein muß, leistenförmige Epithelverdickungen auf, die sich an der Oberfläche furchig einziehen, an der Basis in das subepitheliale Bindegewebe hineinragen. Das Epithel ist in Abhängigkeit vom Anschnittwinkel mehr oder weniger verdickt. Besondere Epitheldifferenzierungen lassen sich noch nicht nachweisen. In der Umgebung finden sich zahlreiche der bereits beschriebenen Drüsen, allerdings hat die Zahl und der Windungsgrad gegenüber dem Tag 15 deutlich zugenommen.

Tag 19: Es zeigt sich kein großer Unterschied in der Entwicklung der morphologischen Verhältnisse zu Tag 18. Allerdings erscheint die Epithelschicht an der Zungenoberfläche verdickt. Die Endigungen der Drüsentubuli lassen sich jetzt deutlich an der Epithel-Bindegewebsgrenze nachweisen.

Tag 20: Hier ist nun der erste entscheidende Einschnitt in der Entwicklung der papilla circumvallata festzustellen. Aus der leistenförmigen Epithelverdickung mit furchigen Einziehungen von Tag 18 ist nun ein Papillengraben entstanden, der in das Bindegewebe hineinwächst. Das Epithel ist stark verdickt und beginnt sich zu differenzieren und damit vom Epithel der übrigen Abschnitte zu unterscheiden. In dem dunklen Epithel scheinen hellere Hohlräume zu entstehen. Auch die Drüsen haben an Zahl und Größe erheblich zugenommen. Sie ragen je nach Anschnitt von der Epitheloberfläche seitlich des Wallgrabens bis tief in das Bindegewebe hinein.

Tag 21: Er zeigt eine weitere Entwicklung der oben (Tag 20) beschriebenen morphologischen Veränderungen. Jetzt, kurz vor der Geburt, entstehen im Epithel an beiden Seiten des Wallgrabens erste Streckungen der Epithelzellen, vielleicht als Beginn der Differenzierungen zu Geschmacksknospen hin. Zahl, Größe und Windungsgrad der Drüsen haben weiter zugenommen.

Tag 1 pp: Nun ist schon deutlich der kegelförmige, bindegewebige Papillenkörper, der mit geschichtetem Pflasterepithel überzogen ist, zu erkennen. Die Wallgräben sind gut ausgeprägt und lassen auf das Vorhandensein

von Geschmacksknospen schließen. Bei höherer Vergrößerung fallen ovaläre Zellstrukturen auf, zum Teil gestreckt oder auch rund, die sich von dem sie umgebenden dunkleren Epithel hell abheben. Es sind erste sich entwickelnde Geschmacksknospen, deren unterschiedliche Form vom Anschnittwinkel abhängig ist. Einige befinden sich genau an den Stellen im Epithel, wo oben (Tag 20) scheinbare Hohlräume beschrieben worden sind. Noch haben sich die Epithelzellen aber nicht zu der für die Geschmacksknospen typischen, spindelförmigen Form der Deckzellen verändert. Geschmackszellen sind ebenfalls noch nicht zu sehen.

Tag 5 pp: Papillengröße und Wallgrabentiefe haben zugenommen. Auch die Umgebung der papilla circumvallata ist durch eine wachsende Zahl von tubulär gewundenen Drüsen gekennzeichnet. Zahl und Größe der Geschmacksknospen haben sich kaum verändert.

Tag 8 pp: Papillenform, Papillengröße und Wallgrabentiefe haben sich erneut verändert und sind größer geworden. Es läßt sich deutlich eine Verbindung zwischen Wallgraben der Papille und einer darunter im Bindegewebe liegenden Drüse erkennen. Zahl und Größe der Geschmacksknospen haben zugenommen. Nun kann man auch spindelförmige Deckzellen erkennen, die allerdings mit ihrem basalen Anteil noch nicht dem Bindegewebe aufliegen, da offensichtlich die Streckung der Zellen noch nicht abgeschlossen ist.

Tag 12 pp: Neben der weiteren Entwicklung der oben beschriebenen morphologischen Zeichen der papilla circum-

vallata sind an der Seite der Papille und auf der gegenüberliegenden Epithelwand des Wallgrabens zur Achse der Papille waagerecht verlaufene, hellere Leisten zu erkennen, die sich von dem sie umgebenden, dunkleren Epithel als helle ovoide Strukturen abheben und bei größerer Betrachtung Geschmacksknospen darstellen.

Tag 30 pp: Die papilla circumvallata ist nun voll entwickelt. Ein breites, mehrschichtiges Epithel überzieht die Papille, an der Zungenoberfläche dicker als an den Seitenwänden. Die bindegewebigen Unebenheiten zur Zungenoberfläche werden durch das Epithel ausgeglichen. Man findet eine Schicht stark abgeplatteter, verhornter aber kernführender Zellen. Darunter Straten nicht verhornter Pflasterepithelien, Stachel- oder Bürstenzellen und Basalzellen, die unmittelbar dem Bindegewebe aufliegen. Ebenfalls scheinen Pigmente in den tiefen Epithelschichten vorhanden zu sein (Körner, Fäden). Deutlich sind die sich in den Wallgräben gegenüberliegenden Geschmacksknospen zu erkennen. Man kann sie als ovoide Körperchen mit langgestreckten, zur Oberfläche konvergierenden Epithelzellen (Deckzellen) sehen. Zum Teil ist der sogenannte Geschmacksporus sichtbar, in dem die Geschmackszellen - ellipsenförmige Zellen, die sich an ihrem oberen Pol verbreitern - basal in einen schmalen Fortsatz übergehen.

Tag 42 pp: Zu diesem Zeitpunkt kann neben den schon am Tag 30 pp erwähnten morphologischen Strukturen die Verbindung zwischen der papilla circumvallata und einer darunterliegenden Drüse gut betrachtet werden.

Nervenanfärbung nach Bodean:

Trotz mehrfacher Wiederholung und Anwendung der verschiedenen Modifikationen können bis einige Tage nach der Geburt keine Nerven im subepithelialen Bereich der Zunge und in der Gegend der papilla circumvallata nachgewiesen werden. Ähnliches gilt für die Fasern in den Geschmacksknospen. Hier sind sie auch in den späten Phasen (Tag 30 und 42 pp) nicht mit den üblichen Silberfärbungen darzustellen. In den übrigen Bereichen, d.h. im Bindegewebe unter dem Epithel lassen sie sich etwa ab Tag 5 bis 10 pp allmählich immer deutlicher in der typischen Weise als geschwärzte fibrilläre Strukturen beobachten. Sie verlaufen bis zum Epithel und zu den Geschmacksknospen hin als feine Einzelfäden oder als aus mehreren Fäden zusammengesetzte kleine Bündel. Offenbar zieht jeweils nur ein kleines Nervenfäserchen zu einer Geschmacksknospe, da auf hintereinanderliegenden Serienschnitten immer nur eine Faser in einer Ebene pro Schnittebene nachweisbar ist.

b. Elektronenmikroskopische Befunde

Die Bearbeitung dieses Materials mit der elektronenmikroskopischen Technik bietet neben den üblicherweise auftretenden technischen Schwierigkeiten ein besonderes Problem: Das Auffinden der einzigen papilla circumvallata im Schnitt. Die kontinuierliche Darstellung aller prae- und postnatalen Stadien ist deshalb noch nicht in genügendem Ausmaß gelungen. Allerdings liegen über die Zeitabschnitte, die im Zusammenhang mit die-

ser Arbeit interessieren, ausreichend elektronenmikroskopische Befunde vor, die eine Stellungnahme zu den in der Einleitung angeschnittenen Fragen erlauben. Es handelt sich um den Zeitpunkt, an dem die Nervenfasern den Papillenbereich erreichen und sich die eigentlichen Geschmacksknospen bilden. Die ersten Fasern in unmittelbarer Nähe des Epithels der papilla circumvallata, allerdings noch sicher außerhalb der Basalmembran, lassen sich am späten Tag 19 mit dem Elektronenmikroskop nachweisen. Am Tag 21 sind sie in großer Menge im und am Epithel im Bereich der späteren Geschmacksknospen zu beobachten. Lichtmikroskopisch treten die ersten Knospen oder deren identifizierbare Vorstufen am Tag 1 postnatal auf. Uns erschien es deshalb sinnvoll, den Tag 21, d.h. einige Stunden vor der Geburt, zu beobachten und diese elektronenmikroskopischen Befunde eingehend zu beschreiben.

Die Epithelzellen enthalten neben dem großen, vorwiegend runden Kern mit großem Nucleolus und mit einigen kleinen Einbuchtungen und Verlaufsunregelmäßigkeiten der Kernmembran eine Vielzahl von cytoplasmatischen Strukturen. Besonders charakteristisch sind für diesen Zeitpunkt noch die große Zahl von freien Ribosomen, die gruppiert als Polysomen erhebliche Teile des Cytoplasmas ausfüllen. Daneben imponieren bereits jetzt die zahlreichen, stark elektronendichten Tonofibrillen. Sie bestehen bei höherer Vergrößerung aus dicht gepackten und parallel verlaufenden Tonofilamenten, die eine Dicke von etwa 50 Å haben. Ob die auffällige Elektronendichte noch darüberhinaus auf der Existenz einer dichten Grundsubstanz beruht, in die die Filamente ein-

gebettet sind, kann nicht sicher entschieden werden. In manchen Tonofibrillen entsteht aber dieser Eindruck.- Daneben kommen noch runde bis ovale Mitochondrien vom Crista-Typ vor sowie kurze Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums. Vereinzelt sind ein kleiner Golgi-Apparat und elektronendichte Granula oder kleinere Vesikel bzw. Vakuolen getroffen.

Die grobe Form der Zellen zeigt noch keine deutliche Beziehung oder Zuordnung zu den intraepithelialen Nerven (siehe weiter unten). Sie sind basal, also zum Bindegewebe oder Mesenchym hin, zwar schon langgestreckt, werden aber dann zum Lumen des Wallgrabens hin polygonal und oberflächlich schließlich längsoval mit der Längsachse parallel zur Oberfläche verlaufend. Im elektronenmikroskopischen Bild ist es sehr schwer, die Zahl der Schichten zu bestimmen. Die Dünne des Schnittes und die unbekannte bzw. schräge Verlaufsrichtung des Schnittes können eine Vielschichtigkeit vortäuschen, die in Wirklichkeit nicht vorhanden ist. Obwohl die Frage nach der Schichtigkeit zur Entscheidung, ob die Geschmacksknospenbildung des Epithels bereits eingesetzt hat, eine gewisse Rolle spielt, kann dennoch auch elektronenmikroskopisch keine sichere Antwort gegeben werden. Ausgeprägte Verhornungserscheinungen und Keratohyalingranula können jedoch zu diesem Zeitpunkt an der Oberfläche des Wallgrabenepithels nicht beobachtet werden. Andererseits sind auch eine geordnete Stellung von Zellen oder andere morphologische Hinweise auf eine "Porus"-Bildung an der Oberfläche des Epithelverbandes nicht sicher nachzuweisen. Der Verlauf der Zellmembran und das Kontaktverhalten der Epithelzellen ent-

spricht am Tag 21 annähernd bereits dem Bild der Verhältnisse bei ausgewachsenen Tieren. Die Membranen benachbarter Zellen können streckenweise parallel und relativ gradlinig zueinander in einem Abstand von 150-250 Å verlaufen. An anderen Stellen weichen die Zellmembranen auseinander. In die so entstehenden Interzellularspalten ragen von beiden Seiten Fortsätze hinein, die eine Länge bis zu 5000 Å und eine Breite bis zu 2500 Å haben können. Allerdings finden sich auch alle Übergangsformen zu plumpen Vorbuchten der Zelle. Charakteristischerweise handelt es sich aber um im Querschnitt schlanke, häufig leicht gekrümmt oder sogar geknickt verlaufende, fingerförmige oder leistenförmige Fortsätze mit einer durchschnittlichen Breite von 1500 Å und einer Länge von mehreren tausend Å-Einheiten. An der Berührungsstelle der Fortsätze benachbarter Zellen - End zu End, End zu Seit oder Seit zu Seit - finden sich verschiedene Kontaktformen:

1. Normale Kontakte mit einem Interzellularspalt von 150-250 Å Breite.
2. Kontakte mit einem verschmälerten Interzellularspalt (< 100 Å), also "close contacts" oder "gab junctions".
3. An wenigen, häufig punktförmigen Stellen verschwindet der Interzellularspalt völlig und die äußeren Lamellen der Zellmembranen verschmelzen zu "tight junctions" oder zonulae occludentes.
4. Desmosomen: Hier verdickt sich in einem umschriebenen Bezirk mit einem Durchmesser von 750 - 1500 Å die innere Lamelle der Zellmembran und das anliegende Cytoplasma verdichtet sich ebenso wie der Interzellularspalt. In die verdichtete Cytoplasmaregion strahlen

fast immer die bereits beschriebenen Tonofilamentbündel ein. Die Zahl der Fortsätze und auch der Desmosomen ist in einem mittleren Epithelbereich größer als basal oder oberflächlich.

Die Epithel - Bindegewebsgrenze ist zu diesem Zeitpunkt (Tag 21) bereits ganz klar definiert. In einem Abstand von etwa 300 Å verläuft eine 300 - 400 Å breite Verdichtungsschicht des Interzellularraumes, die Basalmembran. Bei höherer Auflösung besteht diese Basalmembran aus einem feinfilamentären Netzwerk, das in einer dichteren Grundsubstanz eingebettet ist. Feine Filamente strahlen auch von ihr aus, entweder in den Filz der Oberflächenschicht an der basalen Membran der Epithelzellen oder in das dreidimensionale Filament-Fibrillennetz des eigentlichen bindegewebigen Interzellularraumes. Der grobe Verlauf der Epithel-Bindegewebsgrenze im Bereich des Wallgrabenepithels stellt sich ohne große Einkerbungen und Vorbuchtungen relativ gradlinig dar. Im elektronenmikroskopischen Bild lassen sich nur stellenweise angedeutete fingerförmige Fortsätze, deren Verlauf aber die Basalmembran genau mitvollzieht, nachweisen. Das Epithel selbst ist an der Basalmembran über Hemidesmosomen verankert. Sie entsprechen in ihrem Aufbau an der Epithelseite den Desmosomen: Verdichtung des Cytoplasmas mit einstrahlenden Tonofilamenten, Verdickung der inneren Lamelle der Zellmembran. Die Basalmembran verdichtet und verdickt sich in diesem Bereich etwas. Die auch an anderen Stellen nachweisbaren feinen Fäden zwischen Basalmembran und Zellmembran nehmen hier zu.

Das Bindegewebe im direkten subepithelialen Raum bietet das übliche elektronenmikroskopische Bild. Neben Zellfortsätzen der unterschiedlichsten Größenklassen werden an Zelltypen fast ausschließlich Fibroblasten angeschnitten. Sie sind charakterisiert durch ein stark ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Retikulum und einen großen Golgi-Apparat mit einem Hof aus Granula, Vesikeln und kleinen Vakuolen. Im interzellulären Raum finden sich dünne kollagene Fibrillen (250 Å). Sie haben zu diesem Zeitpunkt noch nicht die endgültige Dicke von 350 - 450 Å erreicht. Die Fibrillen verlaufen einzeln regellos oder aber zu mehreren gebündelt und parallel zueinander. Zwischen den Fibrillen kann wiederum ein feinfilamentäres Netzwerk nachgewiesen werden, die fädigen Makromoleküle der Proteoglykane.

Am Tag 21 der Schwangerschaft sind sowohl im Bindegewebe zu beiden Seiten des Wallgrabenepithels als auch in beiden Blättern des Epithels selbst in großer Menge Nerven zu beobachten. Im Bindegewebe handelt es sich überwiegend um eine große Zahl gebündelter Axone. Ihre Zahl kann beträchtlich sein und 30 - 40 erreichen. Der Durchmesser wechselt von 500 - 5000 Å. Die räumlichen Beziehungen zu den Schwann'schen Zellen sind abhängig von der Entfernung zum Epithel. In einiger Entfernung ist das Axonbündel fast immer vollständig umhüllt von einem plattenförmigen Fortsatz dieser Zellen. Nur vereinzelt ragen kleinere Fortsätze zwischen die Axone des Bündels. In der Nähe des Epithels besteht die Hülle nur noch an umschriebenen Stellen, d.h. das Axonbündel verläuft nackt. Häufiger findet man

jetzt Fortsätze der Schwann'schen Zellen innerhalb des Axonbündels. Die Axone sind an den Mikrotubuli zu erkennen, die sie reichlich enthalten. Die Schwann'schen Zellen besitzen diese Strukturen nicht, dafür aber unregelmäßig geformte, kurze Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums und häufig auch reichlich Polysomen. Im Epithel sind die Axonbündel, auch wenn sie nackt verlaufen, durch eine kontinuierliche Basalmembran gegen den bindegewebigen Interzellularraum abgegrenzt. - Beim Eintritt des Axonbündels in den Epithelverband verschmilzt die "nervöse" mit der epithelialen Basalmembran. Kurz vor diesem Eintritt muß es zu einer Verzweigung der Axonbündel kommen. Man findet jetzt dicht unter der Basalmembran und im Epithelverband auch Einzelaxone oder Bündel aus nur 2-5 Axonen. Es lassen sich drei Formen der Beziehung der Axone zur Umwelt im Interzellularraum des Epithels darstellen:

1. Bündel aus mehreren oder vielen Axonen verlaufen immer nackt. Sie können allerdings im Innern oder auch vereinzelt am Rande plumpe Schwann'sche Zellfortsätze enthalten.
2. Einzelaxone sind in begleitende Fortsätze der Schwann'schen Zellen eingebuchtet und fast vollständig von dem Cytoplasma umhüllt. Ausgeprägte Mesaxone kommen allerdings nicht vor.
3. Auch Epithelzellen, evtl. erste sich entwickelnde "dark cells", vorwiegend so benannt wegen ihrer dunklen Granula im Cytoplasma (Murray and Murray 1973, Uga 1969), können in dieser Weise (siehe oben) Einzelaxone umhüllen (Böck, 1971).

Die Axone enthalten auch im Bereich des Epithelverbandes neben den üblichen Zellorganellen wieder die bereits beschriebenen Mikrotubuli und sind daran leicht zu erkennen. Im basalen Bereich des Epithels, also dicht hinter der Basalmembran, lassen sich aber vereinzelte Axonen nachweisen, die eine große Zahl von membranbegrenzten Vesikeln mit einem Durchmesser von durchschnittlich 800 Å nachweisen. Vereinzelt kommt auch elektronendichte Granula in dieser Größenordnung vor.

IV. Diskussion

Aus diesen Befunden geht hervor, daß die Entwicklung der papilla circumvallata zwar relativ spät beginnt - am Tag 20 ist ihre Anlage erstmals lichtmikroskopisch sicher zu erkennen -, jedoch zum Zeitpunkt des notwendigen Funktionsbeginnes, also kurz nach der Geburt, die ersten Geschmacksknospen bereits morphologisch nachweisbar sind. Die genetische Programmierung ist bei dieser Entwicklung also zeitlich genau abgestimmt. Auch die Entstehung der Spüldrüsen, die für die Säuberung des Wallgrabens so wichtig sind, zeigen zum Zeitpunkt der Geburt eine gute Ausbildung. Die Differenzierung und Reifung der übrigen Zungenregionen erscheint im Vergleich mit der Entwicklung der papilla circumvallata zum Zeitpunkt der Geburt oder vorher etwas weiter fortgeschritten zu sein. Pannier (1975) konnte nachweisen, daß die typische Epithel-Bindegewebsverzahnung und Verhornung im Bereich der papillae filiformes bereits am Tag 15 bzw. 16 beginnt und diese Vorgänge morphologisch gut nachweisbar sind. Auch im postnatalen Verhalten ergeben sich einige Unterschiede. Die Grundanlage der papillae filiformes ist zwar mit der Geburt vorgegeben, die endgültige Reifung bis zum fertigen Zustand benötigt dann aber noch 2 - 3 Wochen. An der Morphologie der papilla circumvallata ändert sich spätestens ab Tag 12 pp nichts Wesentliches mehr. Diese Unterschiede sind auf der Basis der unterschiedlichen Funktionen sinnvoll zu erklären. Die papillae filiformes mit ihrer typischen Epithel-Bindegewebsverzahnung und stachelartigen Verhornung haben eine mechanische Funktion. Das strukturelle Sub-

strat dieser mechanischen Belastung wird zwar genetisch vorgegeben, aber in seiner Ausprägung und in seinem Ausmaß durch die Belastung geprägt. Ähnliche Erfahrungen sind in großem Maße an der Haut gemacht worden (Horstmann, 1955). Bei diesen Überlegungen sind noch nicht die Probleme berücksichtigt, welche die eigentliche formale Genese der papilla circumvallata und der Geschmacksknospen betreffen. Es fehlt also noch die Antwort auf die Frage, warum an einer ganz bestimmten Stelle der Zunge nur eine einzige papilla circumvallata von ganz charakteristischer Gestalt und Geschmacksknospen mit typischer Form und Lokalisation entstehen. Der zweite Teil der Frage (Entstehung der Geschmacksknospen) ist auf der Grundlage unserer heutigen Kenntnisse leichter zu verstehen als der 1. Teil.

Epithel-Bindegewebs- oder Mesenchym-Interaktionen, die schließlich zur Entstehung von besonderen Strukturen wie der papilla circumvallata führen, gibt es in großer Zahl: Die Entwicklung z.B. der Zähne, der Haare, der Fingerleisten (Dermatoglyphen) und der Drüsen. Hier sind eine Fülle von Hypothesen formuliert worden. Von Gradienten der verschiedensten Art über induktive Einflüsse, die von den Gefäßen, Nerven und Interzellularsubstanzen des Mesenchyms kommen (z.B. Hyaluronsäure), bis zu mechanischen Prägungen durch kollagene Texturen reicht diese Diskussion (Hess 1973; Pannier, 1975; Baldus, 1969; Merker, 1973; Hirsch und Schweichel, 1973; Möller, 1975). Diese Vorstellungen treffen aber nur bei flächigen Mustern zu, d.h. bei Strukturen, die in Vielzahl über ein großes Areal verteilt in einer gewissen räumlichen Ordnung vorkom-

men. Mit der Erklärung, daß dieser Vorgang genetisch geprägt sei, wird das Problem aber nur verschoben. Auch der sogenannte genetische Code bedarf zu seiner Realisation oder Manifestation bestimmter Faktoren oder formaler Mechanismen. Unsere Kenntnisse reichen also noch nicht aus, ähnliche auslösende und prägende Faktoren und Ursachen auch bei der Entstehung der papilla circumvallata zu finden. Hier muß nur an einer ganz bestimmten Stelle ein derartiger Faktor wirksam werden. Gradienten der verschiedensten Art scheiden deshalb zur Erklärung dieses Phänomens ebenso aus, wie die überall vorkommenden Gefäß- und Bindegewebssubstanzen. Bei Nerven, obwohl ebenfalls überall vorhanden, könnten Unterschiede auf der Synthese und Sekretion spezifischer Überträgersubstanzen beruhen. Ohne Zweifel sind nervöse Strukturen in der Lage, in epithelio-mesenchymalen Grenzbezirken charakteristische Strukturen entstehen zu lassen. Das klassische Beispiel dafür ist die Augenentwicklung, besonders die Linsenentstehung. Auch bei der Ausbildung der Dermatoglyphen im Handbereich sollen nervöse Einflüsse prägend wirksam werden (Schweichel und Hirsch, 1971). Allerdings sind die eigentlichen Mechanismen noch völlig unbekannt und auch experimentell noch nicht abgesichert. In diesem Zusammenhang könnten der bekannte trophische Einfluß der Nerven im Sinne einer induzierenden, proliferationsfördernden Wirkung am Epithel (Drachman, 1974; Guth, 1969; Zalewski, 1970, 1974) oder aber eine Beeinflussung der Interzellularsubstanz mit nachfolgender Veränderung des Epithels eine Rolle spielen (Schwarz, persönliche Mitteilung).

Sehr viel besser deutbar sind die Vorgänge bei der Entstehung der Geschmacksknospen. Hier haben experimentelle Untersuchungen (Guth, 1958; Fujimoto u. Murray, 1970; Oakley, 1970; Zalewski, 1972) mehr Klarheit erbracht. Die Entwicklung und Existenz der Geschmacksknospen sind nach diesen Befunden abhängig vom Vorhandensein von Nerven, die in der Lage sind, Geschmacksempfindungen zu übermitteln. Andere Nerven sind dazu nicht in der Lage. Die Geschmacksknospen sind Epithelverbände, die Nerven enthalten und deren Zellen durch eine besondere Form, Stellung, und - wie aus histochemischen Untersuchungen hervorgeht - auch durch besondere Stoffwechseleigenschaften ausgezeichnet sind (Baradi und Bourne, 1953).

Durchschneidet man im Experiment die zugehörigen Nerven, so gehen diese Eigenschaften verloren. Stellt man die Kontinuität der Nerven wieder her oder transplantiert man, so entstehen in kurzer Zeit wieder Geschmacksknospen (Zalewski, 1974). Der alte Streit um das Primat von Epithel oder Nerven scheint also zugunsten der Nerven entschieden zu sein. Einige Autoren hatten vermutet, daß sich zunächst das Epithel in Form der Geschmacksknospen anordnet und dadurch sogar [illegible] den Nerven das Einwachsen ermöglicht (Kadanoff und Bozilow, 1961; Kadanoff, 1965). Auch unsere elektronenmikroskopischen Befunde vom Tag 21 praenatal zeigen eindeutig die Führungsrolle der Nerven bei der Ausprägung der Geschmacksknospen. Zu diesem Zeitpunkt lassen sich weder licht- noch elektronenmikroskopisch Knospen nachweisen. Die Nerven haben aber bereits die Basalmembran durchbrochen und befinden sich tief im

Epithelverband. Erst jetzt, nachdem die Nerven eingewachsen sind, müssen sich die Form und die Anordnung der Zellen entsprechend den vorhandenen Nerven ausrichten. Da bereits einen Tag nach der Geburt die ersten Geschmacksknospen sich entwickeln, was schon lichtmikroskopisch nachweisbar ist (siehe Abb. 5), muß dieser Umwandlungsprozeß innerhalb von 24-48 Stunden geschehen. Über den eigentlichen Vorgang dieser "Induktion" und der verursachenden Kräfte ist nichts Sicheres bekannt. Auch hier kann wieder eine Beteiligung der von den Nerven sezernierten Substanzen, z.B. Überträgersubstanzen, vermutet werden (Zalewski, 1969, 1974). Für diese Vorstellung würden die Bilder sprechen, auf denen neben den typischen Axonen mit Mikrovilli auch einzelne Nervenendstücke mit Vesikeln und dichter Granula zu sehen sind. Diese Strukturen sind eindeutig in den letzten Jahren von der elektronenmikroskopischen Forschung als morphologisches Substrat der Speicherung und Sekretion der "Transmittersubstanzen" identifiziert worden. Hier könnte der auslösende Faktor für eine Beeinflussung des Epithels von den Nerven her lokalisiert werden.

Die eigentliche Struktur der Nerven und die Axon-Schwann'schezellbeziehung ist im Epithelverband und dessen Nähe sehr unübersichtlich. Offensichtlich wird aber die am Ende der Schwangerschaft bereits deutliche Abgrenzung der Axonbündel durch Schwann'sche Zellen in der Nähe der papilla circumvallata aufgehoben. Dicht außerhalb der Basalmembran lassen sich vorwiegend nackte Axonbündel nachweisen, die nur noch stellenweise von Fortsätzen der Schwann'schen Zellen be-

deckt sind. Es scheinen darüberhinaus zunehmend solche Fortsätze in den Bündeln selbst zu finden zu sein. Auch im Epithelverband sind die Verhältnisse sehr variabel. Sicher ist aber, daß Fortsätze der Schwann'schen Zellen mit in den Epithelverband hineinziehen. Daneben kommen auch einzelne Axone oder Axonbündel unterschiedlicher Größe entweder nackt oder von Schwann'schen Zellfortsätzen bzw. von Epithelzellen selbst umgeben vor. In beiden eben beschriebenen Erscheinungsformen in die Knospe eindringender Nerven scheint es sich um Vorstufen der endgültigen Nervenformation in der Geschmacksknospe zu handeln. Denn wie mehrere Autoren vermuten (Farbman, 1967; Uga, 1969; Murray, 1973), wir schon oben ebenfalls darlegten, muß die endgültige Entwicklung der Geschmacksknospen unmittelbar nach der Geburt sehr schnell durchlaufen werden. So könnten die Schwann'schen Zellfortsätze eine Art Signalwirkung auf die Umwandlung von Basalzellen in "dark cells" ausüben. Letztere stellen nämlich in der ausgebildeten Geschmacksknospe der erwachsenen Ratte dieselbe Beziehung zu den Axonen her, wie außerhalb der Knospe im Bindegewebe die Axon- Schwann'sche-Zellbeziehung. Man findet schon bei der etwas älteren jungen Ratte keine Schwann'schen Zellen mehr, statt dessen die dunklen Zellen (Uga, 1969; Murray, 1973).

Die Entstehung der papilla circumvallata stellt also ein Modell eines morphogenetischen Ereignisses dar, bei dem Epithel, Mesenchym und Nerven sich gegenseitig beeinflussend beteiligt sind. Schon diese Gründe machen die Untersuchung dieser Vorgänge zu einem sinnvollen Vorhaben. Darüberhinaus werden aber in der em-

bryonal-pharmakologischen Arbeitsgruppe immer genauere Parameter gesucht, die eine Störung oder sonstige Beeinflussung der Ereignisse während der intrauterinen Entwicklung erfassen lassen. Die Erfassung der sogenannten klassischen Mißbildungen reicht längst nicht mehr aus, um das teratogene Risiko einer Substanz, genaue Dosis-Wirkungskurven und den Wirkungsmechanismus exakt in Erfahrung zu bringen. Sehr viel feinere Methoden und Parameter müssen deshalb Anwendung finden und gewertet werden. Ein solcher Parameter könnte die Entwicklung der Geschmacksknospen der papilla circumvallata bei der Ratte sein. Es handelt sich um einen Vorgang, der sich zeitlich genau festlegen läßt - von Tag 21 praenatal bis Tag 1 postnatal -, d.h. von höchstens 24 Stunden vor der Geburt bis 24 Stunden danach. Innerhalb dieses Zeitintervalls müssen die Nerven bis an und schließlich in das Epithel gewachsen sein und sich genügend differenziert haben. Die Epithelzellen müssen dagegen eine Reife zeigen, die es ihnen ermöglicht, diesem Signal Folge zu leisten. Störungen der Proliferation, der Differenzierung und des Axonwachstums können hier elektronenmikroskopisch leicht erfaßt und dokumentiert werden.

V. Zusammenfassung

Die Entwicklung der papilla circumvallata wurde lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch an Rattenembryonen, jungen und erwachsenen Ratten eines Wistar-Inzucht-Stammes (Fw69) beobachtet. Die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden an den Tagen 18, 19, 20 und 21 prae partum, an den Tagen 1, 5, 8, 12, 30 und 42 post partum durchgeführt. Außerdem wurden am Tage 10 pp Nervenanfärbungen nach Bodean (modifizierte Methode nach Romeis) erstellt.

Die Rattenembryonen wurden in einer Alkohol-Bouin-Lösung fixiert, anschließend über eine Alkoholreihe entwässert und in Paraplast eingebettet. Die 5 µ dicken Serienschnitte wurden in Hämalaun-Eosin, Azan und PAS gefärbt.

Von den jungen und erwachsenen Ratten wurden die Zungen herauspräpariert und auf folgende Weise fixiert: Für eine HE-Färbung in einer Alkohol-Bouin-Lösung, für die Nervenanfärbung nach Bodean in neutral gepuffertem Formol. Zur Bewertung kamen dann erneut Serienschnitte von 5 µ Dicke der in Paraplast eingebetteten Präparate.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgten am Tag 21 prae partum. Nach dem Herauspräparieren der geeigneten Stellen erfolgte eine Fixierung in modifizierter Karnovsky-Lösung, eine Nachfixierung in 1 %iger, gepufferter Osmium-Säure (O_sO_4), Die Einbettung erfolgte in Mikropal, die Dünnstschnitte wurden

mit einem LKB-Ultrotome III angefertigt. Für die Aufnahmen benutzten wir ein Zeiss EM 10 und das Siemens Elmiskop 101.

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen zeigen, daß der Entstehung der papilla circumvallata die Entwicklung ihrer Spüldrüsen vorangeht. Nach unseren Befunden findet man die Drüsen schon am Tag 18 embryonal, erste Anzeichen einer Papillenentwicklung aber erst am Tag 20 prae partum. Geschmacksknospen lassen sich am Tag 21 erkennen, was darauf schließen läßt, daß dieser letzte Reifungsprozeß bis zur funktionsfähigen Papille sich innerhalb von 24-48 Stunden vollzieht. Diese Aussage wird durch die elektronenmikroskopischen Ergebnisse bestätigt. Die Nervenanfärbung nach Bodean zeigt am Tag 10 pp zwar Nerven unterhalb des Epithels im Bindegewebe, keinerlei Axone aber im Epithel.

Elektronenmikroskopisch lassen sich dagegen schon am Tag 19 embryonal die ersten Nervenfasern in unmittelbarer Nähe des Epithels nachweisen. Am Tag 21 embryonal sind sie in großer Menge (30-40 Axonbündel) im und am Epithel der papilla. Im Bindegewebe kommen sie überwiegend gebündelt vor. Ihr Durchmesser wechselt zwischen 500-5000 Å. Außerhalb des Epithels ist das Nervenbündel fast immer vollständig von einem plattenförmigen Fortsatz einer Schwann'schen Zelle umgeben. Kurz vor dem Eintritt des Nervenbündels in das Epithel scheint es zu einer Verzweigung des Axonbündels zu kommen. Dicht unter der Basalmembran oder im Epithelverband findet man Einzelaxone oder Bündel von 2 - 5 Axonen. Im Epithel der papilla circumvallata

treten nackte Axonbündel, Einzelaxone eingebuchtet in begleitende Fortsätze Schwann'scher Zellen und Einzelaxone von Epithelzellen umhüllt auf. Das Epithel ist zu diesem Zeitpunkt durch Epithelzellen charakterisiert, deren Cytoplasma durch eine große Zahl freier Ribosomen und elektronendichter Tonofibrillen ausgefüllt ist. Die grobe Form der Zellen zeigt noch keine deutliche Beziehung zu den intraepithelialen Nerven. Jedoch entsprechen der Verlauf der Zellmembran und das Kontaktverhalten der Epithelzellen bereits dem Bild der Verhältnisse bei erwachsenen Tieren. Die Epithel-Bindegewebsgrenze ist zu diesem Augenblick bereits ganz klar definiert. In einem Abstand von 300 Å verläuft eine 300 - 400 Å breite Basalmembran. Das Bindegewebe bietet das übliche elektronenmikroskopische Bild, wobei Fibroblasten im Zellgeschehen überwiegen.

Diskutiert wird die Entstehung der papilla circumvallata als Modell eines morphogenetischen Ereignisses, bei dem Epithel, Mesenchym und Nerven sich gegenseitig induzieren. Speziell werden Erscheinungsform der Nerven, ihr Verhalten und ihr Einfluß auf die Entwicklung der Papille und der Geschmacksknospen kritisch analysiert.

VI. Literatur

Baldus, A. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die frühen Differenzierungsphasen der Zahnleiste bei der Ratte. - Inaugural-Dissertation der Freien Universität Berlin, 1969

Baradi, A.F. — Intragemmal spaces in taste buds.- Zeitschr. Zellfor. u. mikr. Anat. des Menschen, Bd. 65, 1965, S. 313 ff.

Baradi, A.F. u. Bourne, G.H. — Gustatory and olfactory epithelia - Int. Rev. Cytol. 2, 1953, p. 289-330

Bargmann, W. — Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen - 6. Aufl. 1967, S. 654-655

Böck, P. — Demonstration intraepithelialer Axone in der papilla filiformis des Meerschweinchens - Acta anatomica, Bd. 79, 1971, p. 225-238

Drachman, D.B. — Trophic actions of the neuron: an introduction - Ann. New York Acad. Sci., Vol. 228, 1974, p. 3-5

Engelmann, Th.W. — Die Geschmacksorgane - Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben, Bd.I, 1871, S. 822-830

Engström, H. u. Rytzner, C. — The structure of taste buds - Acta oto-laryngol. Vol. 46, 1956, p. 361-367

Farbman, A.J. — Electron microscopy study of the developing taste bud in rat fungiform papilla - J. Ultrastruct.Res., 11, 1965, p. 110-135

Farbman, A.J. — A particle-membrane complex in developing rat taste buds - J. Ultrastruct. Res. 19, 1967, p. 514-521

Farbman, A.J. — Fine structure of the taste bud - J. Ultrastruct. Res., 12, 1965, p. 328-350

Farbman, A.J. — The taste bud, a modell System for Development Studies in: Developmental Aspects of oral Biology, Slavkin and Bavetta, Academic Press, 1972, New York - London

Fujimoto, S. u. Murray, R.G. — Fine structure of degeneration and regeneration in denervated rabbit vallate taste buds - Anat. Rec. 168, 1970, p. 393-414

Gasparini, F. — Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Geschmacksknospen in den papillae vallatae des Menschen - Acta anatomica, Bd. 14, 1952, S. 393-398

Gråberg, J. — Zur Kenntnis des cellulären Baues der Geschmacksknospen beim Menschen - Anat. Hefte Bd. XII, H.39, 1899, S. 338 ff.

Grobstein, C. — Mechanismus of organogenetic tissue interaction - Nat. cancer Inst. Monogr., 26, 1967, p. 279 ff.

Guth, L. — Taste buds on the cat's circumvallate papilla after reinnervation by glossopharyngeal, vagus, and hypoglossal nerves - Anat. Rec. 130, 1958, p. 25-37

Heidenhain, M. — Über die Sinnesfelder und die Geschmacksknospen der papilla foliata des Kaninchens - Arch. mikr. Anat., Bd. 85, 1914, S. 365-479

Hess, M. — Die frühe Haarentwicklung bei Mäuseembryonen im licht- und elektronenmikroskopischen Bild - Inaugural-Dissertation der Freien Universität Berlin, 1969

Hirsch, W. u. Schweichel, J.U. — Morphological evidence concerning the problem of skin ridge formation - Journal of Mental Deficiency Research, Vol. 17, Part I, March 1973

Holtfreter, J. — Mesenchyme and epithelia in inductive and morphogenetic processis - Epithelio - mesenchymal Interactions, ed. by R. Fleischmajer and R.E. Billingham, Williams & Wilkins Co., 1968, p. 1-30

Horstmann, H. — Moellendorff's Handbuch der mikroskopischen Anatomie, Band "Haut", 1955, Springer-Verlag: Berlin-Göttingen-Heidelberg

Kadanoff, D. — Die Nervenendigungen der Geschmacksknospen - Symp. Biol. Hung., 5, 1965, S. 43-51

Kadanoff, D. u. Bozilov, V. — Embryonale Entwicklung der Geschmacksrezeptoren in der Zunge des Menschen (bulg) - Izvestija Inst. morph., 4, 1961, S.143-148

Kaplick, M. — Über Vorkommen, Verteilung und histologische Beziehungen der Geschmacksknospen am Munddach einiger Säuger, besonders der Nagetiere - Zeitschr. f. Zellfor., Bd. 38, 1953, S. 572-590

Keibel, F. — Normentafel zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere - 15 Ergänzungsheft, 1937

Key, E.A. — Über die Endigungsweise der Geschmacksnerven in der Zunge des Frosches - Reichert's und du Bois Reymonds Archiv, 1861, S. 336 ff.

Kolmer, W. — Über Strukturen im Epithel der Sinnesorgane - Anat. Anzeiger, Bd. 36, 1910, S. 281 - 299

Lovén, Ch. — Beiträge zur Kenntnis vom Bau der Geschmackswärzchen der Zunge - Arch. f. mikr. Anat., Bd. 4, 1868, S. 96 ff.

Marchand, M.L. — Developpement des papilles gustatives chez le foetus humain - Compt. Rend. Soc. Biol. Paris, 54, 1902, p. 910 ff.

Merker, H.J. — Die Entstehung der Dermatoglyphen - Proc. des III. Internat. Dermatoglyphen-Kongresses 1973, im Druck

Möller, R. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Speicheldrüsen bei Mäuseembryonen - Inaugural-Dissertation der Freien Universität Berlin 1975

Murray, R.G. — The ultrastructure of taste buds - J. Friedmann: The ultrastructure of sensory organs, North-Holland-Puplishing Company 1973

Murray, R.G. et.al.	Relations and possible significance of taste bud cells - Contrib. Sens. Physiol., Bd. 5, 1971, p. 47-95
Nementschek, H. Gansler, H. u. Ferner, H.	Über die Ultrastructur der Geschmacksknospen - Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat., Bd. 63, 1964, S.155-178
Oakley, B.	Reformation of taste buds by crossed sensory nerves in the rat's tongue - Acta Physiol. Scand., 79, 1970, p. 88-94
Pannier, R.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Morphologie der Epithel-Bindegewebsgrenze im Zungenbereich bei Ratten während der Entwicklung - Inaugural-Dissertation der Freien Universität Berlin 1975, im Druck
Rehmer, H. u. Meyer, U.	The problem of division of taste buds - Zeitschr. f. mikr. anat. Forsch., Bd. 81, 1969, p. 209-220
Schwalbe, G.	Über die Geschmacksorgane der Säugethiere und des Menschen - Archiv f. mikr. Anat., Bd. 4, 1868, S. 154 ff.
Schweichel, J.U. u. Hirsch, W.	Das Bild der Hautleisten und Furchen und einige Überlegungen zum Problem ihrer Entstehung - Hautleisten u. Krankheiten (ed. Hirsch, W.), Berlin
Svejda, J. u. Janota, M.	Scanning electron microscopy of the papillae foliatae of the human tongue - Oral surgery, oral medicine, oral pathologie St. Louis, Vol. 37, No. 2, 1974, p. 208-216

Uga, S. — A study on the cytoarchitecture of taste buds of rat circumvallatae papillae - Archivum Histologicum Japanicum, Bd. 31, 1969, p. 59-72

Wyss, H. — Die becherförmigen Organe der Zunge - Arch.f. mikr. Anat., Bd. 6, 1870

Zalewski, A.A. — Combined effects of testosterone and motor, sensory, or gustatory nerve reinnervation on the regeneration of taste buds in the rat - Exp. Neurol., 23, 1969, p.18-28

Zalewski, A.A. — Role of nerve and epithelium in the regulation of alkaline phosphatase activity in gustatory papillae - Exp. Neurol. 23, 1969, p.18-28

Zalewski, A.A. — Continuous trophic influence of chromatolysed gustatory neurons on taste buds - Anat. Rec. 167, 1970, p.165-174

Zalewski, A.A. — Trophic functions of neurons in transplanted neonatal ganglia - Exp. Neurol. 45, 1974, p.189-193

Zalewski, A.A. — Neuronal and tissue spezifications involved in taste bud formation - Anals of the New York Academy of Sciences, Vol. 228, 1974, p. 344-349

BILDMATERIAL

Die Abbildungen sind fortlaufend numeriert.
Bei den Abbildungen 1 - 13 handelt es sich um lichtmikroskopische Aufnahmen, Abbildung 14 - Abbildung 23 sind elektronenmikroskopische Bilder.

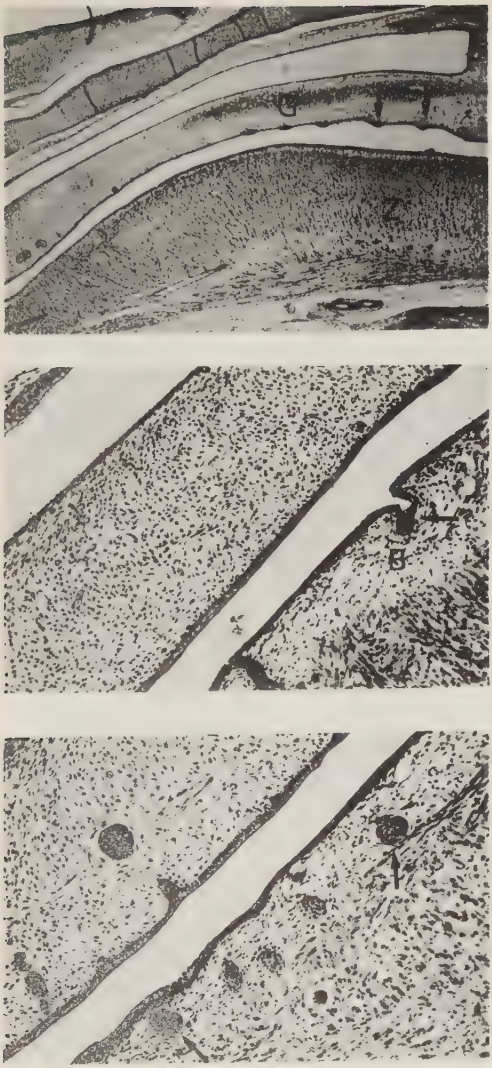

Abb. 1.) Rattenembryo Tag 18

a.) Übersichtsaufnahme des hinteren Zungen (Z)- und Gaumenbereichs (G) im Längsschnitt, ↓ = rugae palatinae, Vergrößerung 1 : 11

b.) Zungenbereich kurz vor Übergang in die Epiglottis, Längsschnitt, ↓ = furchige Einstülpung der Epithelleiste im Bindegewebe (β), Vergrößerung 1 : 44

c.) Lage ähnlich wie oben beschrieben, Drüsengewebe (↓), Vergrößerung 1 : 44

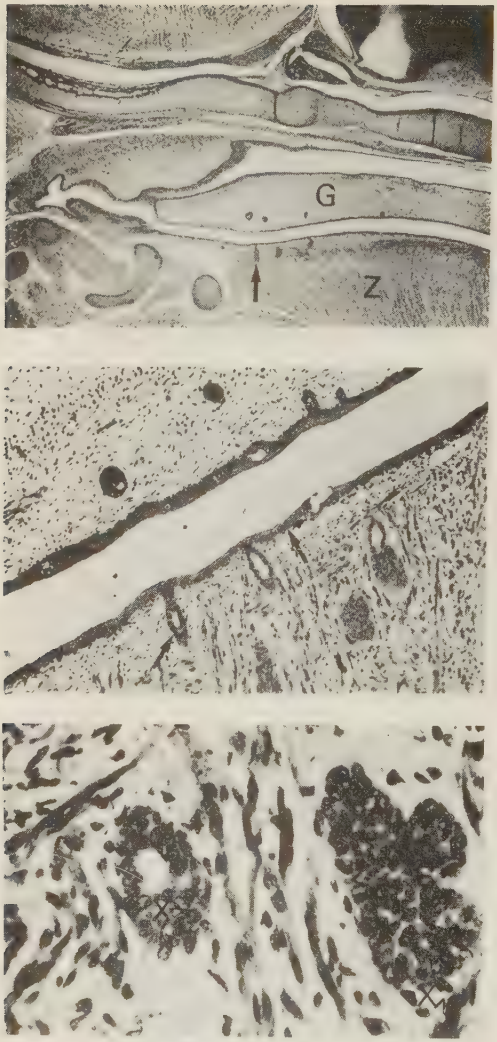

Abb. 2.) Rattenembryo Tag 19

a.) Übersichtsaufnahme des hinteren Zungen (Z)- und Gaumenbereichs (G) im Längsschnitt, beginnende Drüsenentwicklung (↓), Vergrößerung 1 : 11

b.) Situation wie oben, Epithelverdickung (↓), Drüsen im Bereich der Epithel-Bindegewebsgrenze (↓), Vergrößerung 1 : 44

c.) Zwei Drüsen bei hoher Vergrößerung, links quergeschnitten (X), rechts schräg angeschnittener Drüsentubulus (X_1), Vergrößerung 1 : 176

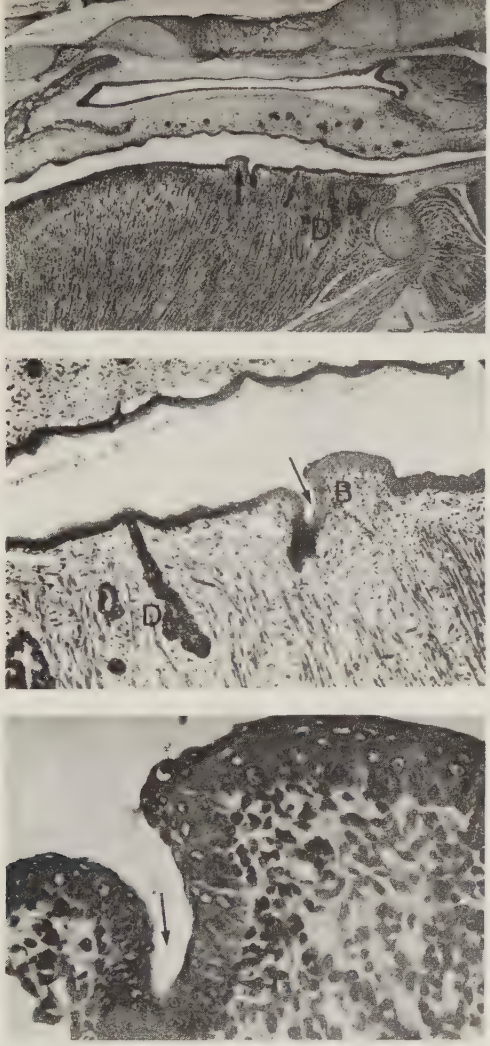

Abb. 3.) Rattenembryo Tag 20

a.) Übersichtsaufnahme des hinteren Zungen-Gaumenbereichs im Längsschnitt, beginnende Entwicklung einer papilla circumvallata (↓), D = Drüsen, Vergrößerung 1 : 11

b.) Epithelproliferation in Form eines Wallgrabens (↓) in das Bindegewebe (B), Längsschnitt, D = Drüsen, Vergrößerung 1 : 44

c.) Papillengraben im Längsschnitt (↓), beginnende Differenzierung in Richtung einer Basalmembran (↓), Vergrößerung 1 : 176

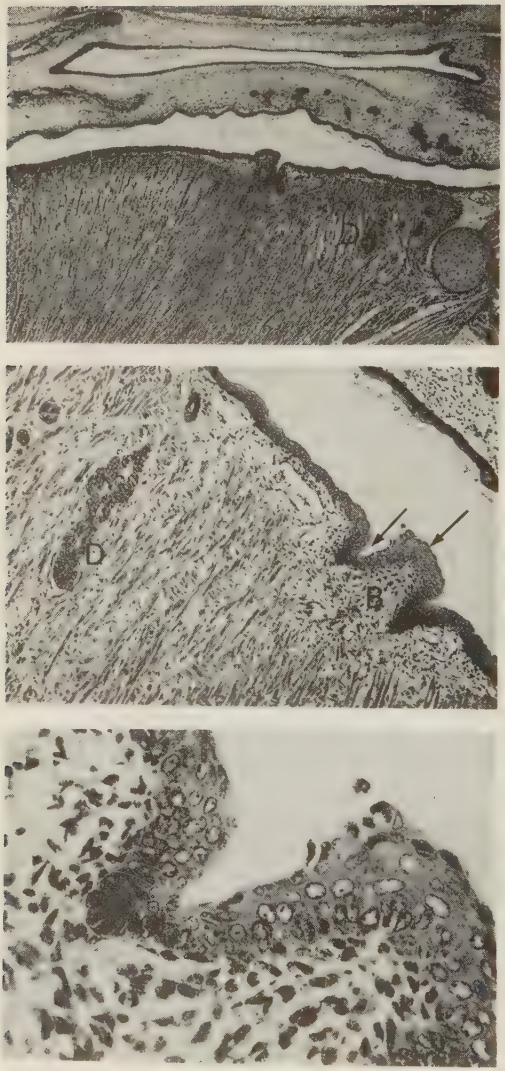

Abb. 4.) Rattenembryo Tag 21

a.) Übersichtsaufnahme der Zunge mit entstehender papilla circumvallata (↓), D = Drüsen, Längsschnitt, Vergrößerung 1 : 11

b.) Zunge mit papilla circumvallata (↓), Proliferation des Epithels als Wallgraben (↓) ins Bindegewebe (B), D = Drüsentubuli, Längsschnitt, Vergrößerung 1 : 44

c.) Höhere Vergrößerung aus b., Vergrößerung 1: 176

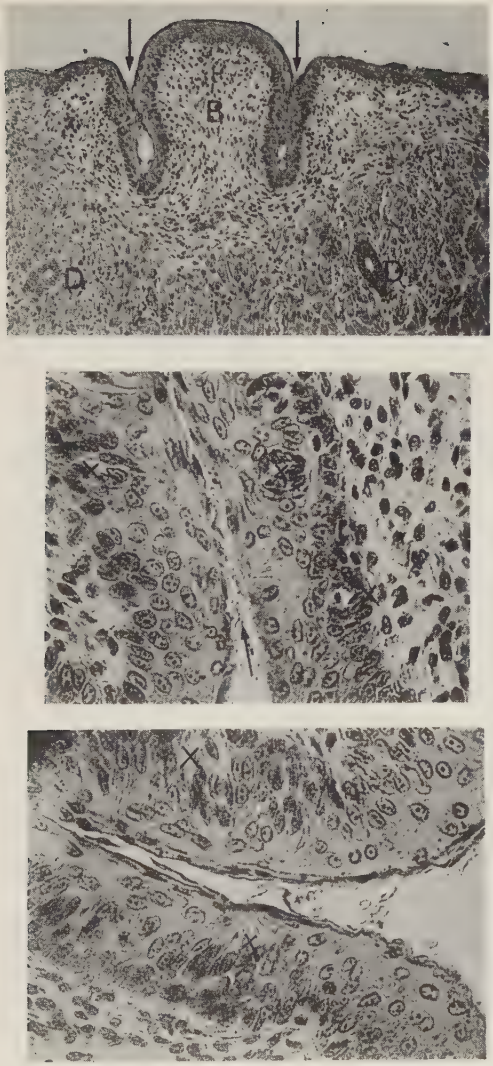

Abb. 5.) Rattenzunge Tag 1 pp

a.) Papilla circumvallata mit Wallgräben (↓), D = Drüsen, Bindegewebe (B), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 11

b.) Wallgraben in höherer Vergrößerung (↓), (×) entstehende Geschmacksknospen, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

c.) Lage wie oben, entstehende Geschmacksknospen (×), Vergrößerung 1 : 176

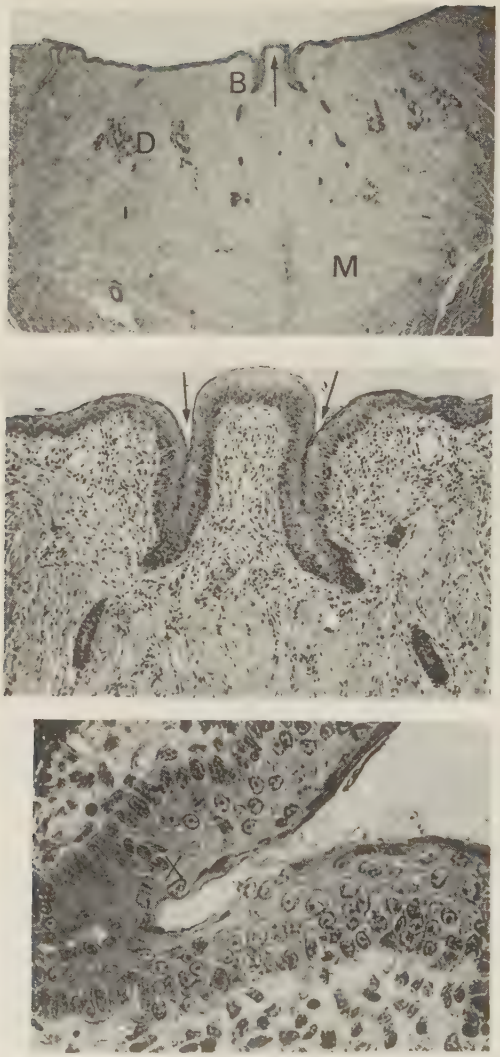

Abb. 6.) Rattenzunge Tag 5 pp

a.) Übersichtsaufnahme der Zunge im Querschnitt, papilla circumvallata mit Wallgräben (↓), D = Drüsentubuli, B = Bindegewebe, M = Zungenmuskulatur, Vergrößerung 1 : 11

b.) Höhere Vergrößerung aus a., Wallgräben (↓), Vergrößerung 1 : 44

c.) Wallgraben mit beginnender Geschmacksknospenbildung (×), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

Abb. 7.) Rattenzunge Tag 8 pp

a.) Übersichtsaufnahme der Zunge mit papilla circumvallata (↓) im Querschnitt, Vergrößerung 1 : 11

b.) Wallgräben (↓) mit Epithelproliferation zu einer Drüse (↓), Vergrößerung 1 : 44

c.) Wallgraben im Querschnitt (↓), Geschmacksknospen, Deckzellen (X,↓), B = Bindegewebe, Vergrößerung 1 : 176

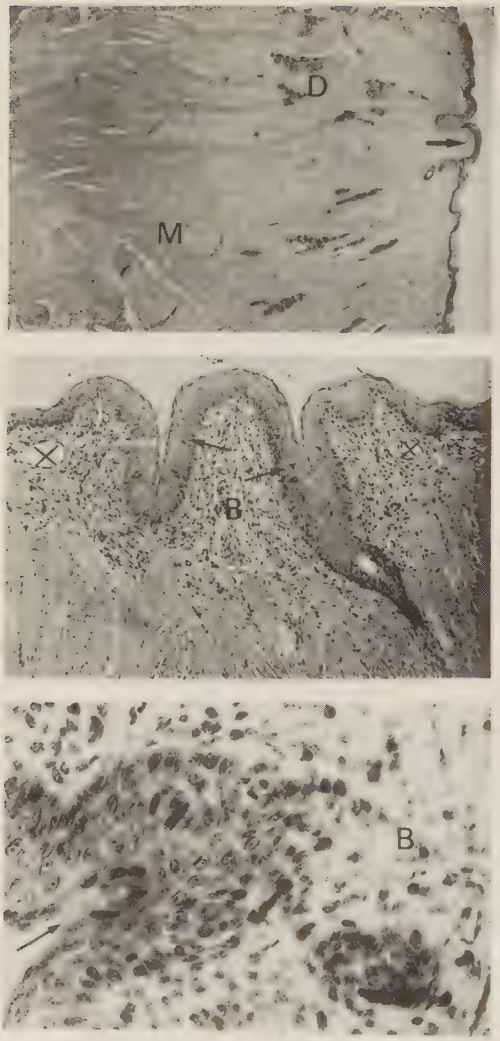

Abb. 8.) Rattenzunge Tag 12 pp

a.) Übersichtsaufnahme der Zunge im Querschnitt mit papilla circumvallata (↓), zahlreichen tubulär gewundenen Drüsen (D), Zungenmuskulatur (M), Vergrößerung 1 : 11

b.) Papilla circumvallata mit Geschmacksknospen (↓), Drüsenmündung im Wallgraben (↓), große Gefäße (X), B = Bindegewebe, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 44

c.) Wallgraben der Papille (↓), Bindegewebe (B), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

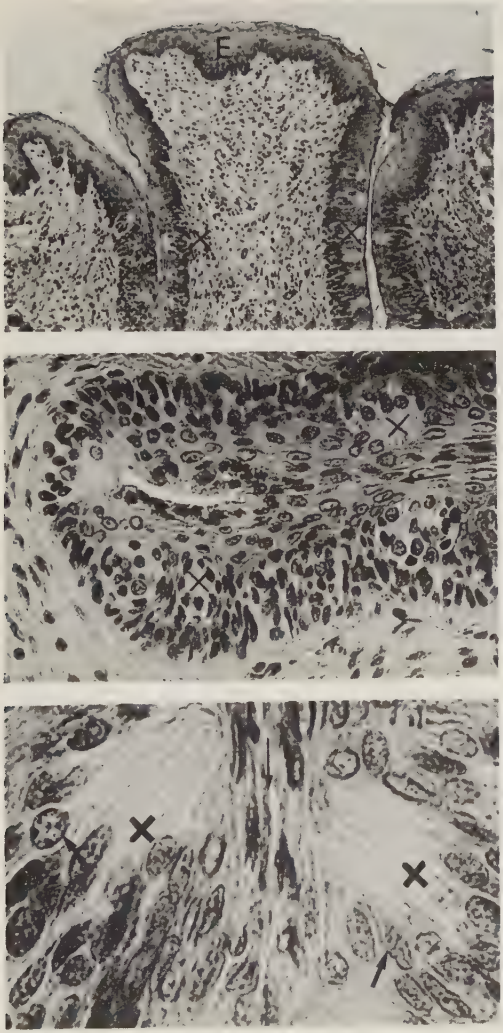

Abb. 9.) Rattenzunge Tag 30 pp

a.) Papilla circumvallata mit mehrschichtigem, verhornten Epithel (E), zahlreichen Geschmacksknospen (X), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 44

b.) Papillengraben (↓) mit zahlreichen Geschmacksknospen (X), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

c.) Zwei Geschmacksknospen (X) am Boden des Wallgrabens (↓) im Querschnitt, (↓) Geschmackszellen, Vergrößerung 1 : 440

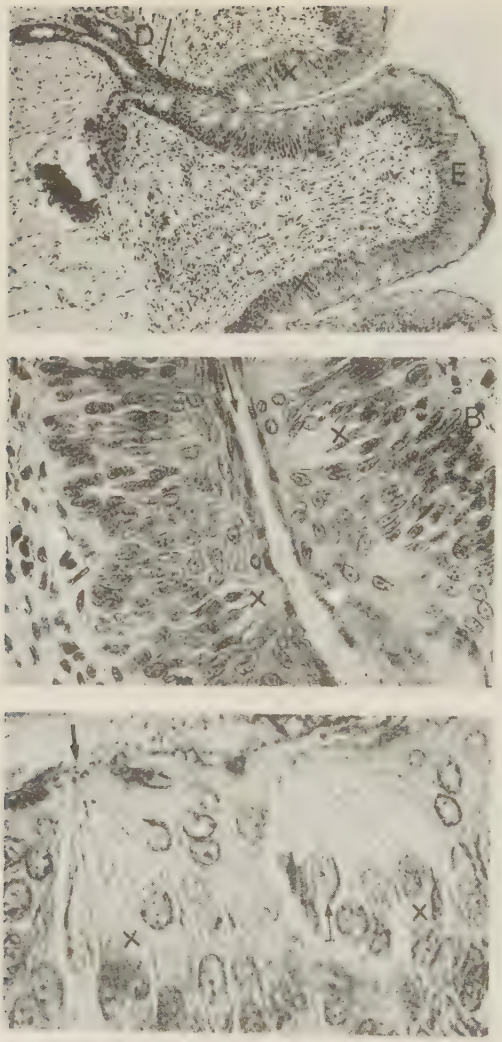

Abb. 10.) Rattenzunge Tag 42 pp

a.) Papilla circumvallata der erwachsenen Ratte, (X) Geschmacksknospen, ↓ = Mündung des Wallgrabens in darunterliegende Drüse (D), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 44

b.) Wallgraben (↓) mit Geschmacksknospen (X), B = Bindegewebe, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

c.) Zwei Geschmacksknospen (X) mit spindelförmigen Geschmackszellen (↓), ⇓ = "Porus" einer Geschmacksknospe, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 440

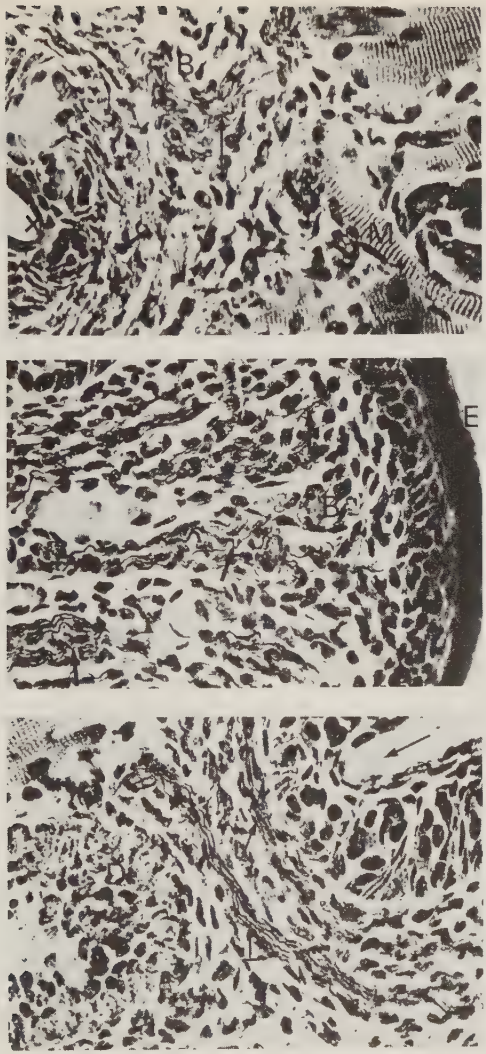

Abb. 11.) Rattenzunge Tag 10 pp
Nervenanfärbung nach Bodean

a.) Boden des Wallgrabens einer papilla circumvallata (X), mit circulär verlaufenen Nervensträngen (↓), M = Zungenmuskulatur, B = Bindegewebe, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

b.) Nerven (↓) im Papillenkegel, E = Epithel, B = Bindegewebe, Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

c.) Situation wie bei a, zwischen Drüse (D) und Wallgraben (↓) verlaufende Nervenfasern (↓), Querschnitt, Vergrößerung 1 : 176

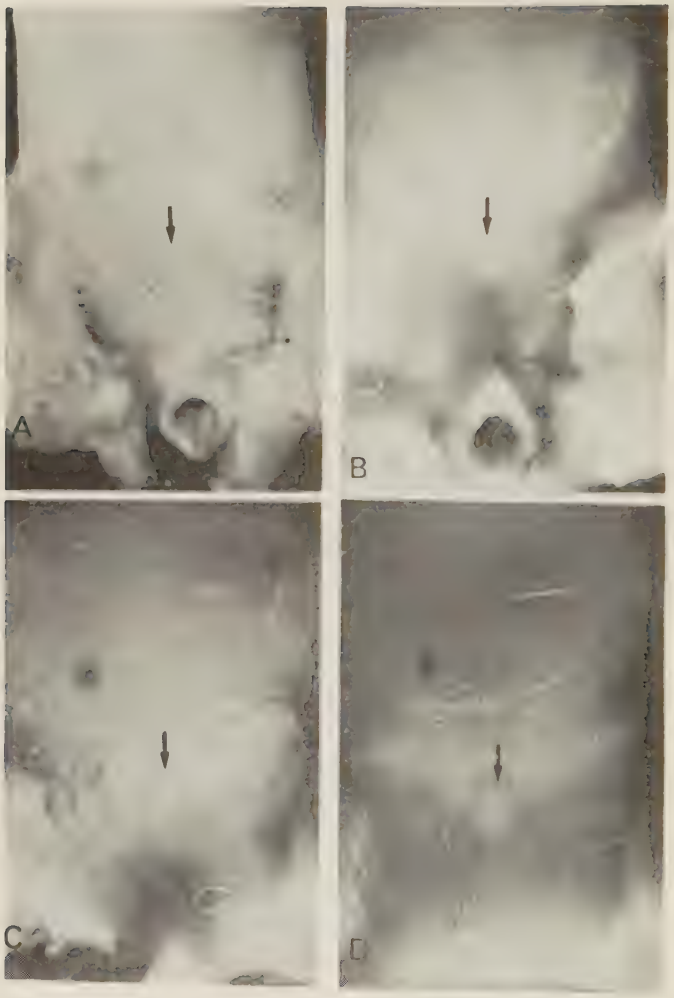

Abb. 1(c)

Auflichtaufnahmen der Rattenzunge mit dem Tessovar von Zeiss, = papilla circumvallata

a - Tag 1 pp

b - Tag [illegible]

c - Tag [illegible]

d - Tag 15 pp

Vergrößerung 1: 18

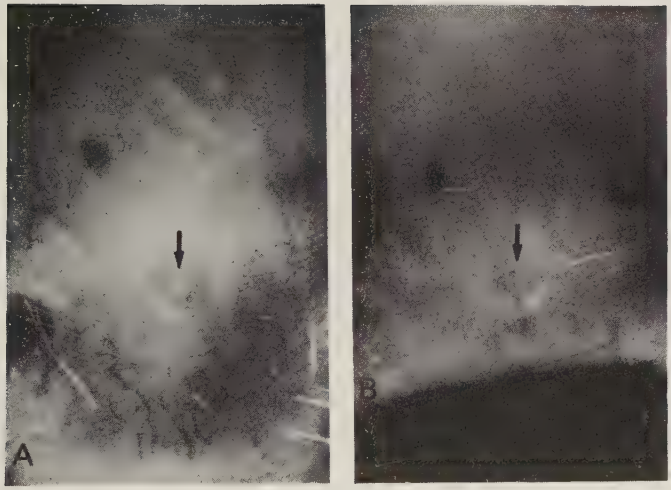

Abb. 13.)

Auflichtaufnahmen der Rattenzunge mit dem Tessovar von Zeiss, = papilla circumvallata

a - Tag 20 pp
b - Tag 25 pp

Vergrößerung 1: 18

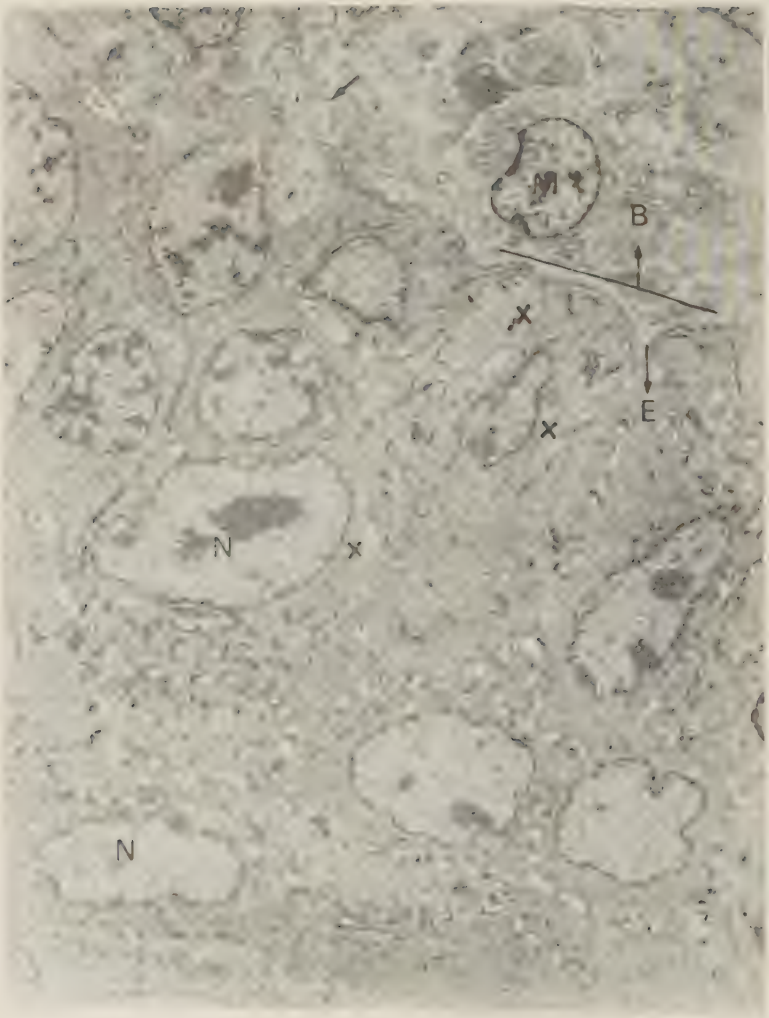

Abb. 14.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Übersichtsbild von der Epithel (E)-Bindegewebsgrenze (B) im Bereich der papilla circumvallata. Einwanderndes Axonbündel an der Epithel-Bindegewebsgrenze (↓), Axon im Epithelverband (x), M = Kern einer Bindegewebszelle, N = Kerne des Epithels, Vergrößerung 1 : 7000

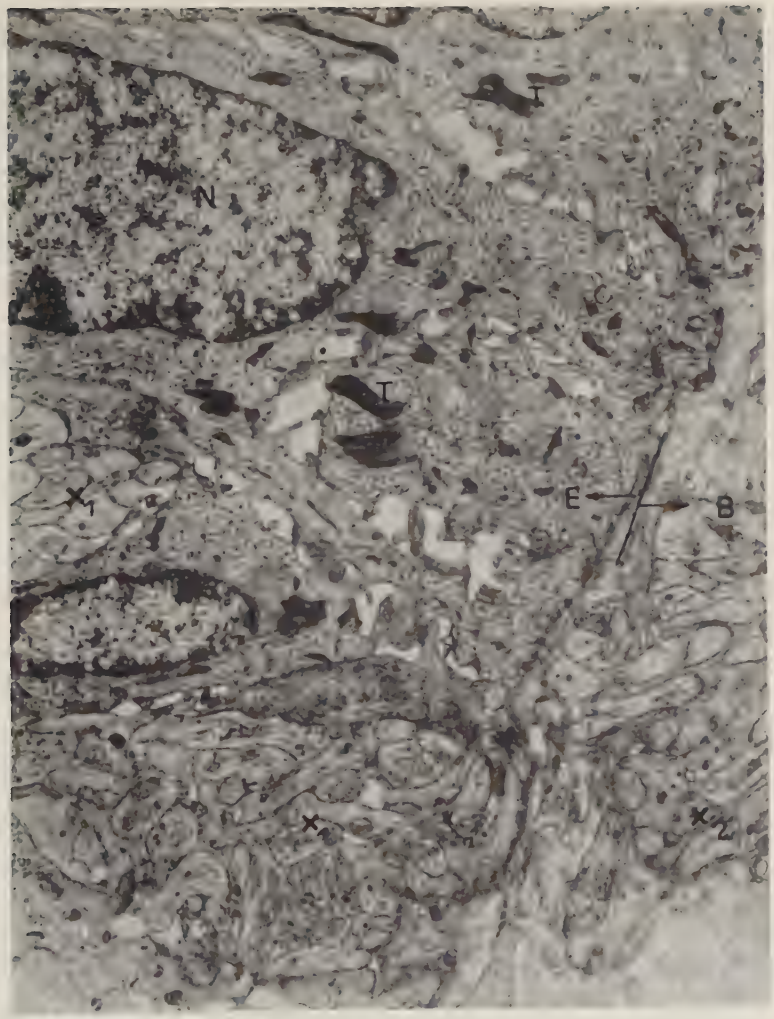

Abb. 15.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Epithel (E) - Bindegewebsgrenze (B) mit
Axonbündel im Epithelverband (im = x_1),
außerhalb des Epithelverbandes (x_2), N
Kerne von Epithelzellen, T = Tonofilament-
bündel, Vergrößerung 1 : 21000

Abb. 16.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Epithel-Bindegewebsgrenze im Bereich der papilla circumvallata, in dem Epithelverband liegendes Axonbündel (x_1), außerhalb des Epithelverbandes (x_2), N = Kerne von Epithelzellen, Vergrößerung 1 : 21000

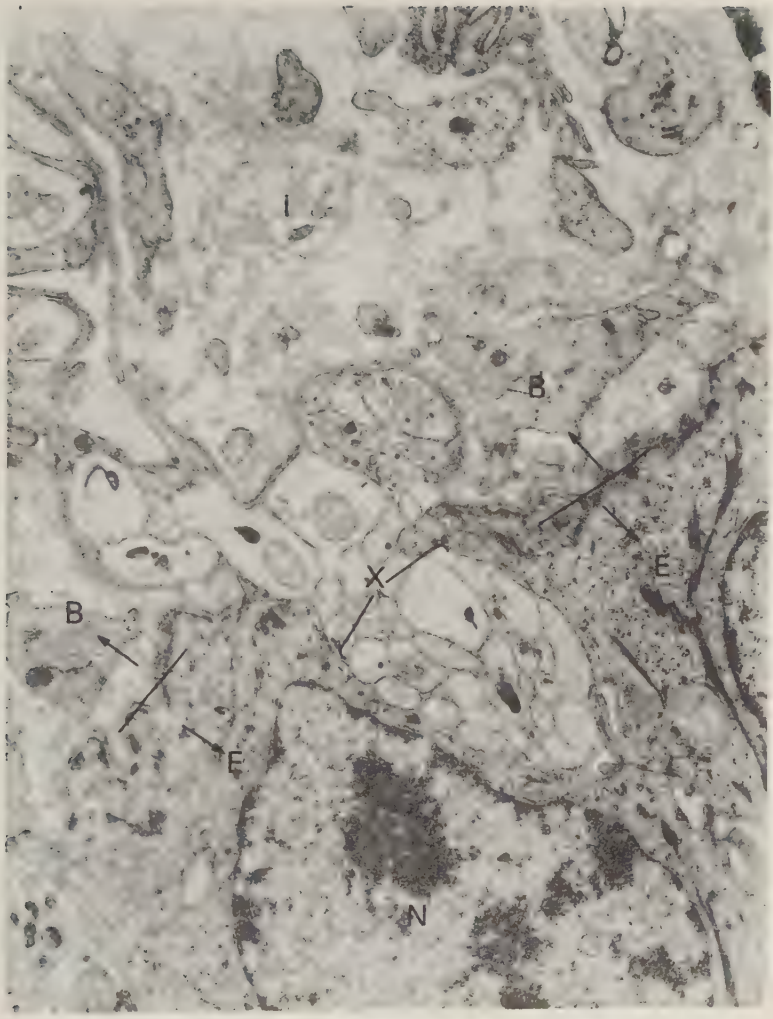

Abb. 17.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Epithel-Bindegewebsgrenze im Bereich der papilla circumvallata, in den Epithelverband eindringendes Axonbündel (x), N = Epithelzellenkerne, I = Interzellulärer Raum des Bindegewebes, Vergrößerung 1 : 28000

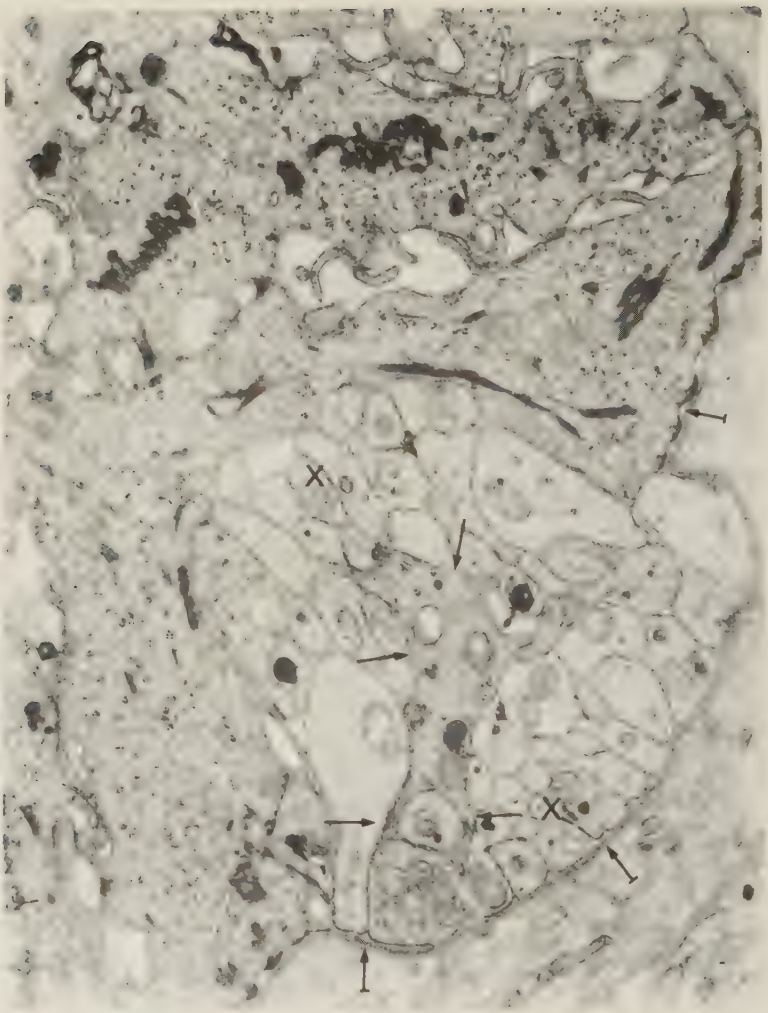

Abb. 18.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Axonbündel (x) im Epithelverband mit einem Schwann'schen Zellfortsatz (↓), deutliche Begrenzung durch eine Basalmembran (↓) zum Bindegewebe, Vergrößerung
1 : 45000

Abb. 19.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Axonbündel (x) im Bereich des Epithelverbandes, deutliche Abgrenzung durch eine Basalmembran (⟦) vom Bindegewebe, I = Interzellularraum des Bindegewebes, I_E = Interzellularraum des Epithels, Vergrößerung 1 : 70000

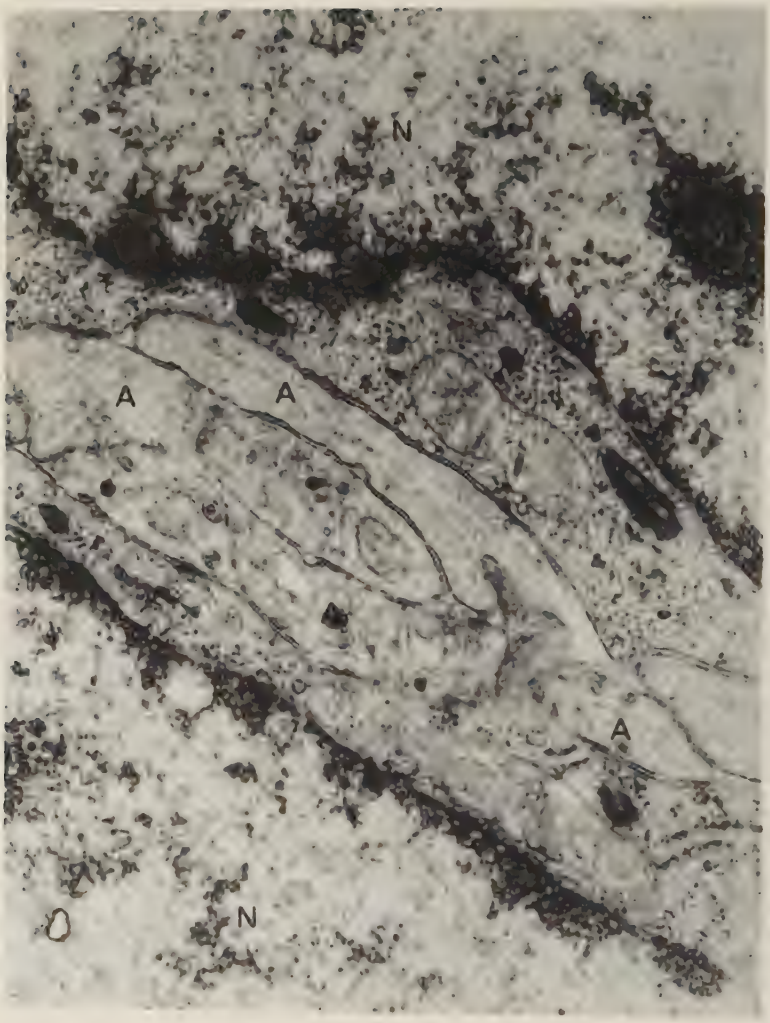

Abb. 20.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Bündel schräg geschnittener Axone (A) zwischen Epithelzellen im Papillenbereich,
N = Epithelzellenkerne, Vergrößerung
1 : 70000

Abb. 21.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Axone (A) im Epithelbereich der papilla circumvallata, fragliche Umscheidung durch epithelzellenähnliche Zellen (E) oder Schwann'sche Zellen (S), Vergrößerung 1 : 70000

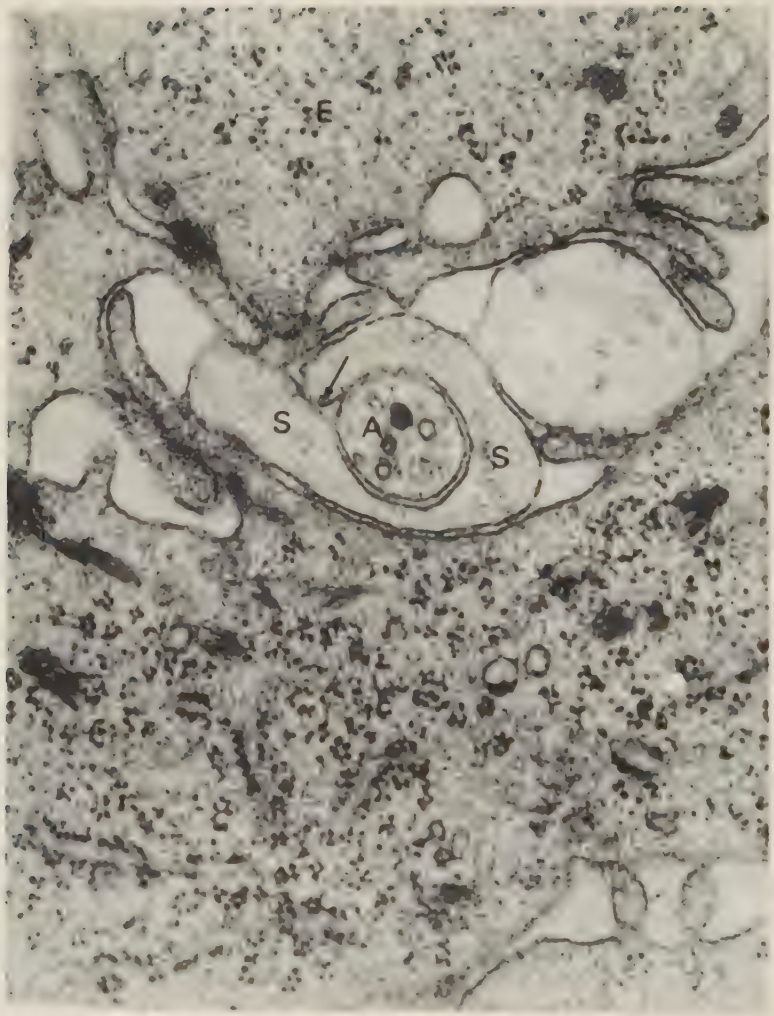

Abb. 22.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Axon (A) mit Mesaxom (↓) in einer Schwann'
schen Hülle (S) zwischen Epithelzellen (E),
Vergrößerung 1 : 112000

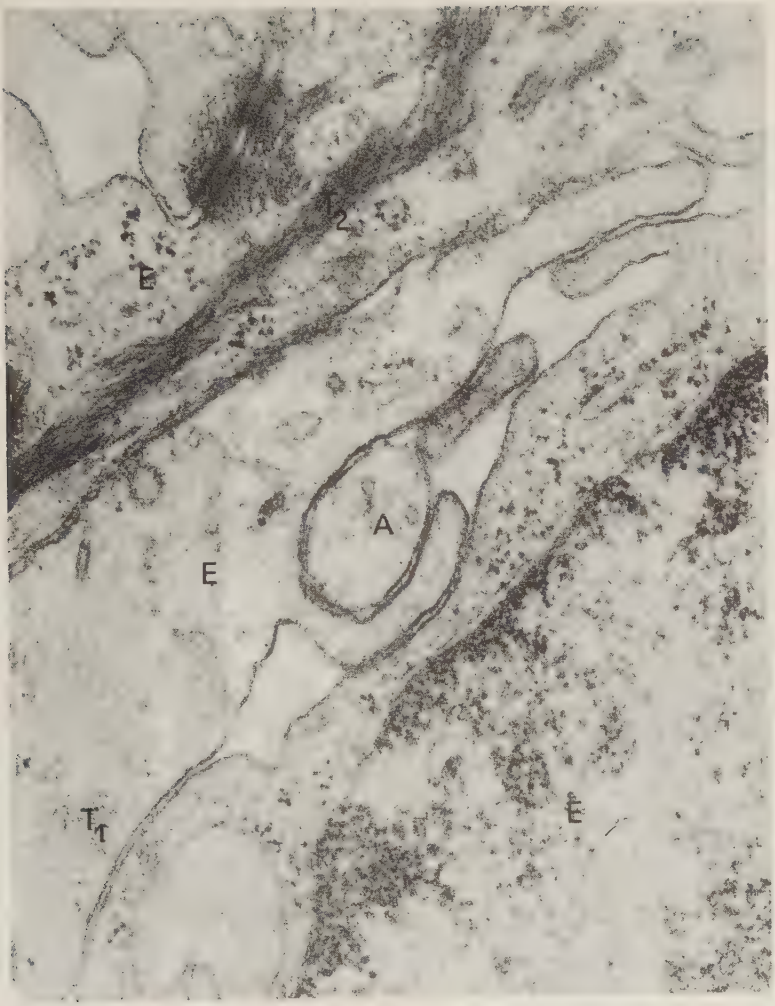

Abb. 23.) Rattenzunge Embryo Tag 21
Axon (A) in einer Epithelbucht, Epithelzellen (E) mit quer (t_1) und längs (t_2) getroffenen Tonofilamentbündeln, Vergrößerung 1 : 112000

Herrn Professor Dr. med. H. J. Merker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank den Mitarbeitern des Anatomischen Institutes, besonders Frl. Krüger und Frl. Stürje.

Lebenslauf

Am 16. Dezember 1946 wurde ich als Sohn der Oberstudienrätin Ursula Karau in Hameln an der Weser geboren. Von 1953 bis 1956 besuchte ich die Friedrich-Ebert-Volksschule in Nienburg und die Hohnsen-Grundschule in Hildesheim. 1957 wechselte ich zum Gymnasium Josephinum in Hildesheim über, wo ich am 8. Februar 1966 das Abitur erfolgreich bestand.

Es folgten zwei Jahre bei der Bundeswehr in Hildesheim und Munster, die ich 1968 als Leutnant der Reserve beendete.

Im April 1968 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin. Nach zwei Semestern bestand ich am 11. April 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, nach weiteren drei vorklinischen Semestern am 12. Oktober 1970 die zahnärztliche Vorprüfung. Am 27. Juli 1973 erhielt ich nach bestandenem Staatsexamen die Bestallung als Zahnarzt.

Seit 1. September 1973 arbeite ich als Assistent in der Praxis Dr. Scheuermann in Berlin-Kreuzberg.
Am 23. Oktober 1970 heiratete ich die Lehrerin Ingeborg Koll und bin seit Januar 1974 Vater eines Sohnes.